

ANALYZING METHOD FOR BODY FLUID COMPONENT AND BODY FLUID COLLECTION SHEET

Publication number: JP8201382 (A)

Publication date: 1996-08-09

Inventor(s): YAMAGATA FUMIO; UMEGAYA YOSHIHIKO; HASEGAWA MIDORI; TAJIMA SHIGERU; KAWAZU SHOJI +

Applicant(s): NIPPON KAYAKU KK +

Classification:

- **international:** **G01N31/22; G01N33/52; G01N31/22; G01N33/52; (IPC1-7): G01N31/22; G01N33/52**

- **European:**

Application number: JP19950027259 19950124

Priority number(s): JP19950027259 19950124

Abstract of JP 8201382 (A)

PURPOSE: To suppress the decomposition caused by rot or the proliferation of bacteria in the transportation or preservation period of the components in the object body fluid and stably hold the components in the body fluid until test measurement by using a water absorbing material containing an antibacterial agent or an antiseptic. **CONSTITUTION:** A water absorbing material such as filter paper, fabric, cotton, glass fiber filter paper, or synthetic plastic containing an antibacterial agent or an antiseptic such as boric acid or benzoic acid is brought into contact with a body fluid (specimen) such as urine to absorb and collect it in the water absorbing material. The body fluid can be collected very simply, the water absorbing material having collected the body fluid can be sealed in a sealed container such as a chucked vinyl bag which is sanitary and compact, and the specimen can be easily transported. The concentration reduction of the measurement components (sugar, protein or the like) in the specimen during preservation can be prevented by the antibacterial agent or antiseptic held by the water absorbing material in advance, and a stable measured result is obtained. The components in the specimen after preservation can be analyzed by enzyme or a color reagent.

Data supplied from the *espacenet* database — Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-201382

(43) 公開日 平成8年(1996)8月9日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/52	B			
31/22	1 2 1 F			

審査請求 未請求 請求項の数 7 F D (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願平7-27259

(22) 出願日 平成7年(1995)1月24日

(71) 出願人 000004086

日本化薬株式会社

東京都千代田区富士見1丁目11番2号

(72) 発明者 山縣 文夫

東京都大田区北千束3-16-19 カーサ大岡山708

(72) 発明者 梅香家 佳彦

群馬県高崎市岩鼻町239

(72) 発明者 長谷川 みどり

群馬県大田市由良1133-2

(72) 発明者 田島 茂

群馬県藤岡市藤岡675-11

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 体液中成分の分析法及び体液採取用シート

(57) 【要約】

【目的】 安定した測定結果を与える簡便な体液中の成分の分析法を提供すること

【構成】 抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に体液を保存した後、該体液中の成分を分析することを特徴とする体液中の成分の分析法及び抗菌剤または防腐剤を含む体液採取用シート

【特許請求の範囲】

【請求項1】抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に体液を保存した後、該体液中の成分を分析することを特徴とする体液中の成分の分析法。

【請求項2】抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に体液を保存する際に抗菌剤又は防腐剤を含む吸水材を用いる請求項1の分析法。

【請求項3】吸水材が汙紙である請求項2の分析法。

【請求項4】体液が尿である請求項1、2又は3記載の分析法。

【請求項5】体液中の成分が糖である請求項1、2、3又は4記載の分析法。

【請求項6】抗菌剤又は防腐剤を含む体液採取用シート。

【請求項7】体液採取用シートが汙紙であり、尿糖検査用に用いる請求項6の採尿用シート。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【産業上の利用分野】本発明は体液中の成分を分析する方法及び体液採取用シートに関する。

【0002】

【従来の技術】検診などで行われる生化学検査においては、診断の効率を上げるため、空腹時に採血や採尿したり、食事、薬物の投与、運動などの負荷後に採血や採尿するなど、特定の条件下での体液の採取が要求される。従って、定期検診やドック検診においては、妊娠診断薬や尿糖検査試験紙など、おおざっぱな定性試験でよいOTC試薬の場合とは異なり、検体の採取条件の遵守と、検査の操作上のミスや判定誤差を回避するため、被験者を施設に拘束して体液を採取し、専任の担当者によって測定が行われている。また、学童検診などのマス・スクリーニングにおいては、被験者全員を施設に拘束することは、時間と費用の点から困難であるため、予め指定した条件と方法で検体を採取させ、これを専門の検査機関に収集し、専任の担当者によって測定が行われている。一方、検体中の成分を測定する試薬については、酵素をベースとする試薬組成物を含有した乾式相試験片が主に用いられている。この検査法は低価格であること、特別な装置を必要とせず目視判定が可能であるため使用し易いこと、比較的正確な試験ができること、及び応答時間が短いことなどの利点から今日、臨床検査室、開業医の病院、診療所及び家庭において、尿その他の液体試料中の対象成分を試験するために広く使用されている。中でも特に血中及び尿中のブドウ糖の検出及び定量測定はその頻度も高く重要で、糖尿病患者では必須の測定項目である。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】学童検診などのマス・スクリーニングにおいては、被験者に指定した条件下で検体を採取させ、これを専門の検査機関に提出させなけ

ればならないが、検体の採取方法が困難であったり、検体の運搬が嵩高で非衛生的であったり、輸送及び保存中に検体が腐敗し、測定成分の濃度が低下するなどの問題があり、合理的な検体の採取・運搬・保存方法が求められていた。例えば、尿糖による糖尿病のスクリーニングの場合がある。現在、糖尿病のマス・スクリーニングは、随時尿や早朝第一尿による尿糖試験が行われているが、糖尿病の境界型、軽度の糖尿病や発症初期の糖尿病患者では陰性となる場合があり、問題となっている。最も効率の良いスクリーニングには、食事負荷後である夕食後2時間尿を用いるのが望ましいが、採尿や検体の取り扱いの煩雑さのため、尿蛋白検査用の早朝第一尿が供用されており、未だに夕食後2時間尿は、実施されていない。また、検体中の成分を測定する試薬では、酵素をベースとする試薬組成物を含有する乾式相試験片を用いる方法には、熱安定性、保存安定性や温度安定性が充分でないなどの問題点が存在していた。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、これらの問題点を解決すべく鋭意検討した結果、本発明を完成した。

【0005】即ち、本発明は

(1) 抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に体液を保存した後、該体液中の成分を分析することを特徴とする体液中の成分の分析法、

(2) 抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に体液を保存する際に抗菌剤又は防腐剤を含む吸水材を用いる上記

(1)の分析法、

(3) 吸水材が汙紙である上記(2)の分析法、

(4) 体液が尿である上記(1)、(2)又は(3)記載の分析法、

(5) 体液中の成分が糖である上記(1)、(2)、

(3)又は(4)記載の分析法。

(6) 抗菌剤又は防腐剤を含む体液採取用シート。

(7) 体液採取用シートが汙紙であり、尿糖検査用に用いる上記(6)の採尿用シートに関する。

【0006】これにより、従来使用していた体液試料の採取容器、例えば、尿採取用の採尿コップや尿検体の輸送用のかさばるポリ容器の使用は特に必要ではなくなり、検体の採取が極めて簡便に行えるようになった。また、検体を採取した吸水材を、チャック付きビニール袋などの密封容器に封入することにより、衛生的でコンパクトにすることができ、検体の運搬が容易になった。さらに、予め吸水材に保持されている抗菌剤又は防腐剤により、保存による検体中の測定成分の濃度低下を防止でき、安定した測定結果が得られるようになった。これにより、さらに応用範囲を広げ、郵送による検診も可能になるものと考えられる。また、検体中の成分を測定する試薬としては、酵素をベースとする試薬組成物を含有する乾式相試験片に限らず、液状試薬組成物の使用も可能

となり、安価で、使いやすく、安定な試薬の調製が可能となった。本発明を用いれば、夕食後1～2時間尿を用いる尿糖のマス・スクリーニングが容易に行えるようになり、糖尿病患者の見逃しを大幅に減少でき、スクリーニング効率の向上に貢献できる。

【0007】本発明において、体液としては血清、血漿、尿及び随液などが挙げられ、特に対象とする重要な体液は尿である。また体液中の成分としてはブドウ糖などの糖、蛋白質、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ケトン体、亜硝酸塩など臨床上重要な成分が挙げられ、特にブドウ糖が重要である。

【0008】抗菌性物質又は防腐性物質としては例えば抗菌剤又は防腐剤が挙げられるが、その他に、材質自体が抗菌性又は防腐性を有する吸収材例えば抗菌性繊維を用いた不織布なども挙げられる。

【0009】吸水材としては体液を含浸あるいは採取できる吸水材であれば特に制限はなく、例えば汙紙、布、木綿、麻、パルプ、絹、ガラス繊維汙紙、ナイロンメンブレンなどの合成プラスチックなどがある。さらにはマイクロチップなどの定量的採取容器も吸水材の代用として利用可能である。特に好ましくは汙紙である。吸水材の大きさは特に限定されないが通常1～10cm×0.5～3cm好ましくは4～10cm×1～3cmのシート状のものを用いる。また、吸水材に含ませる抗菌剤又は防腐剤としては体液の保存期間において抗菌又は防腐効果を有するものであればよく、例えばほう酸、ほう酸エステル、酸類（安息香酸、パラヒドロキシ安息香酸、パラアミノ安息香酸、サリチル酸、デヒドロ酢酸、ソルビン酸など）、フェノール系化合物（フェノール、ジブロモフェノール、ジクロロフェノール、パラオキシ安息香酸誘導体、クレゾール、クロロクレゾール、ヘキサクロロフェン、パラクロロメタキシレノール、イルガサンDP-300など）、アジ化ナトリウム、第4級アンモニウム化合物（塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムなど）、両性界面活性剤（アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩など）、ラウリル硫酸ナトリウム、チメロサル、オキシキノリン硫酸塩、6-アセトキシ-2,4-ジメチルメタジオキサン、塩酸クロロヘキシジン、グルコン酸クロロヘキシジン、銅剤、抗生物質、ペンゾイミダゾール系殺菌剤、ジカルボキシイミド系殺菌剤、チアゾリン系化合物（プロクリン300、プロキセル、ケーソンなど）などがあり、好ましくはほう酸、安息香酸である。吸水材に含ませる防腐剤、抗菌剤の量は吸水材に対して0.01～10重量%が好ましく、特に好ましくは0.5～4重量%である。防腐剤、抗菌剤はあらかじめ吸水材に含ませておくことが好ましく、例えば吸水材に含浸するのみでも良いし、あるいは吸水材に強固に化学的に結合しておくことも可能である。

【0010】吸水材による体液の採取は例えば吸水材を体液に接触させ体液を吸水材に吸収させることにより容

易に行うことができる。体液を例えば吸水材などに採取した状態で保存する場合、体液は分析時まで密閉容器中で保存することが好ましく、密閉容器の形態及び材質などに特に制限はないが体液中の成分が乾燥、濃縮されることなく、湿潤状態を保持することが可能な密閉度の高いものがより好ましい。体液中の成分を保存する期間は、通常1～6日間くらいであり、検査までに要する移送などの時間を考慮すると好ましくは1～4日間くらいであり、保存温度は好ましくは0～30℃である。本発明によれば体液は安定に保持され、体液中の成分の存在量を分析時まで安定に保持することができる。

【0011】保存後の体液中の成分の分析は公知の方法に準じて行うことができる。例えば酵素・発色試薬を用いて分析することができる。酵素・発色試薬は当然その分析対象成分により組成が異なるが、例えばグルコースが分析対象成分の場合、測定法としてはグルコースデヒドロゲナーゼによる紫外部吸光測定法、ヘキソキナーゼ／グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼによる紫外部吸光測定法、ジアホラーゼ等を用いたホルマザン反応を利用する方法及びグルコースオキシダーゼを用いる方法などがあり、最も良く用いられるグルコースキシダーゼ法ではグルコースの酸化によって発生する過酸化水素を検知するための酸化触媒のペルオキシダーゼや被酸化性色原体が酵素・発色試薬の組成因子となる。また、用いる色原体としては可視部に吸収のあるものであればよく、通常良く用いられるo-アニシジン、ベンチジン、o-トリジン、テトラメチルベンチジン、ロイコ系色原体及びアミノアンチピリンとフェノール誘導体やアニリン誘導体を組み合わせるトリンダー系試薬などが用いられる。また、オキシダーゼ、色原体及びペルオキシダーゼなどの酵素・発色試薬はその安定性などを考慮に入れ組み合わせて用いるがこれらはこれら試薬を乾燥又は半乾燥状態で含有する吸水性試験紙の形で使用することもできるし、また、液状の酵素・発色試薬として使用することも可能である。

【0012】1) 試薬を乾燥又は半乾燥状態で含有する吸水性試験紙の形で用いる場合、保存後の体液例えば該体液を含有する吸水材に該吸水性試験紙を接触させることにより成分分析を行うことができ、また2) 試薬を液状として用いる場合は、保存後の体液例えば該体液を含有する吸水材に試薬を添加することにより成分分析を行うことができる。また1)、2)の場合において吸水材と体液との接触により発色を生じないような組成であれば体液を含有する吸水材側にあらかじめ色原体及び／又はペルオキシダーゼなどを含有しておくことも十分可能である。このようにして体液中の成分の判定あるいは体液中の成分濃度の測定を行うことができる。本発明の体液採取用シートは上記の、抗菌剤又は防腐剤を含む吸水材であってシート状のものであり、特に尿糖検査に用いる採尿用シート等として有用である。

【0013】

【実施例】以下、実施例及び比較例により本発明を具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

【0014】実施例1

抗菌処理及び抗菌処理の汙紙を使用し、6名の尿試料A～Fを用いて以下に記載の実験を行い、尿採取直後の結果と2日間保存後の結果を比較した。

比較例1

処理なしの汙紙を使用して6名の尿試料A～Fを用いて以下に記載の実験を行い、採尿直後の結果と2日間保存後の結果を比較した。

【0015】抗菌処理及びの汙紙の作成法

抗菌剤ほう酸及びプロクリン300 (ROHM AND HAA S 社製)の1%水溶液をそれぞれ調製し、それぞれ社アドバンテック社製東洋汙紙No. 2 25×25cmに含浸後、室温において自然乾燥し次いで2×8cmに裁断して、抗菌処理の汙紙(ほう酸処理したもの:ほう酸含量は汙紙に対して0.9重量%及び抗菌処理の汙紙(プロクリン300処理したもの:プロクリン300含量は汙紙に対して0.9重量%)を得た。なお以下の実施例においても同様な方法でそれぞれの抗菌剤を用いてそれぞれの抗菌処理汙紙を作成した。

【0016】処理なしの汙紙の作成法

上記のアドバンテック社製東洋汙紙No. 2 25×25cmを2×8cmに裁断して処理なしの汙紙を得た。

以下の比較例においても同様に作成して用いた。

発色試薬の組成

グルコースオキシダーゼ	6 U/ml
HRP	5 U/ml
フェノール	6 mM
4-アミノアンチピリン	0.67 mM
リン酸緩衝液(pH 6.8)	0.1 M

なお以下の実施例や比較例においても上記と同一の組成の発色試薬を使用した。

【0017】操作法

上記の3種の汙紙に各試料(原尿又は原尿+100mg/dlグルコース)300μl添加後、密封容器(チャック付きビニール袋)へ封入し2日間室温にて放置した。その後、汙紙を取り出し、発色試薬10μlをそれぞれ滴下し、発色度合いを採尿直後の発色(表1)と比較、観察した(表2及び表3)。なお、表中の+3,+2,+1,±とは発色試薬滴下5分後の発色の強度を示しており、この順に発色は弱くなる。－とは全く発色のないことである。以下の実施例や比較例においても同様の判定で行った。原尿+100mg/dlグルコースとは糖尿病患者A,B,C,D,E,Fの尿9mlに対して1000mg/dlグルコース1mlの割合で混合調製したことを意味し、以下の実施例や比較例においても各濃度に応じて同様の操作で調製した。

【0018】

【表1】

【0019】

【表2】

2日間保存後
実施例1

	A	B	C	D	E	F
原尿						
抗菌処理①	+2	+1	±	±	±	±
抗菌処理②	+2	+1	±	±	±	±
原尿+100mg/dlグルコース						
抗菌処理①	+3	+2	+1	+1	+1	+1
抗菌処理②	+2	+2	+1	+1	+1	+1

【0020】

【表3】

2日間保存後
比較例1

	A	B	C	D	E	F
原尿						
処理なし	-	-	-	-	-	-
原尿+100mg/dl グルコース						
処理なし	+2	-	-	+1	-	-

【0021】結果

比較例1における処理なしの濾紙では、2日間の保存により全く発色が認められず、グルコースの消失が見られた。それに対し、実施例1における抗菌処理の濾紙及び抗菌処理の濾紙では、尿採取直後と同等の発色が見られ、採尿時のグルコース濃度を安定して保持できることを確認した。

【0022】実施例2

4種類の抗菌剤〔抗菌剤ほう酸、プロクリン300（ROHM AND HAAS 社製）、塩化ベンザルコニウム、安息香酸〕を用いて抗菌剤の種類による保存効果の差異を以下に記載の実験により検討した。

比較例2

処理なしの濾紙を用いて実施例2と同様にその保存効果
採尿直後

(いずれの濾紙の場合も同じ結果)

原尿①	原尿① +グルコース	原尿②	原尿② +グルコース
+1	+2	-	+1

【0025】

【表5】

2日間保存後
実施例2

	原尿①	原尿① +グルコース	原尿②	原尿② +グルコース
抗菌剤①	+1	+2	-	+1
抗菌剤②	+1	+2	-	+1
抗菌剤③	+1	+2	-	+1
抗菌剤④	+1	+2	-	+1

【0026】

【表6】

について比較検討した。

【0023】操作法

抗菌剤への抗菌処理を施した濾紙（いずれの濾紙も抗菌剤含量は濾紙に対して0.9重量%及び処理なしの濾紙に各試料を300μl添加後、密封容器（チャック付きビニール袋）へ封入し、室温で2日保存後、発色試薬10μlをそれぞれ滴下し、発色度合いを採尿直後の発色（表4）と比較、観測した（表5及び表6）。試料には原尿（糖尿病患者）、原尿+100mg/dl グルコース、原尿（健常者）、原尿+100mg/dl グルコースを使用した。

【0024】

【表4】

2日間保存後
比較例2

	原尿①	原尿① +グルコース	原尿②	原尿② +グルコース
処理なし	—	—	—	—

【0027】結果

比較例2に対して実施例2では検討に用いた抗菌処理した汙紙全てにおいて、尿採取直後の発色度合いと同等の色度を保持していた。

【0028】実施例3

実施例1の抗菌処理の汙紙を用いて原尿（健常者）及び2000,1000,500,200,100mg/dlグルコース1mlをそれぞれ原尿9mlへ添加して得た試料を用い、発色度の変化を検討した。

比較例3

採尿直後

(いずれの濾紙の場合も同じ結果)

原尿+200	+100	+50	+20	+10	原尿
+2	+1	±	±	—	—

【0031】

【表8】

2日間保存後
実施例3

	尿+200	+100	+50	+20	+10	原尿
抗菌処理①	+2	+1	±	±	—	—

【0032】

【表9】

2日間保存後
比較例3

	尿+200	+100	+50	+20	+10	原尿
処理なし	+1	—	—	—	—	—

【0033】結果

比較例3の処理なし汙紙に対して実施例3の抗菌処理の汙紙は添加濃度系列の順に尿採取直後の色調変化を保持していた。

【0034】実施例4

実施例1の抗菌処理の汙紙を用いて実施例2の原尿（糖尿病患者）を汙紙に含浸し、密封容器チャック付き

他の比較例と同様に処理なしの汙紙を使用し検討した。

【0029】操作法

処理なしと抗菌処理の汙紙に原尿+200,100,50,20,10mg/dl グルコース及び原尿を300μlそれぞれの汙紙に添加後、それぞれ密封容器（チャック付きビニール袋）へ封入し室温で2日間保存した。その後各汙紙に発色試薬10μlを滴下し、発色度合いを採尿直後（表7）と比較した（表8及び表9）。

【0030】

【表7】

ビニール袋）へ封入して約40℃下で保存した。上記の実施例1と同様の発色試薬を用いて、保存2日後、4日後の発色度合いを採尿直後の発色と比較した（表10）。

比較例4

処理なし汙紙を用いて実施例4と同様の操作で保存2日後、4日後の発色度合いを採尿直後の発色と比較した（表10）。

0035】

【表10】

	処理なし抗菌処理①	
採尿直後	+1	+1
2日後	—	+1
4日後	—	+1

【0036】結果

比較例4に対して実施例4では2日後、4日後とも採尿直後と同等の発色度合いを有しており、40℃で少なくとも4日間は安定にグルコース濃度を保持できることを確認した。

【0037】

【発明の効果】本発明によれば、体液を抗菌性物質又は防腐性物質の存在下に保存することにより、試験測定時

に酵素・発色試薬を用いて体液中の成分の安定した判定あるいは定量が可能となった。さらに前述の吸水材を防腐・抗菌剤で処理することにより体液中の成分の移送中あるいは保存期間中の腐敗、細菌の繁殖などによる分解を抑え、試験測定時まで安定に体液中の成分を保持できるようになった。更に本発明によるところの抗菌剤又は防腐剤を含む体液採取用シートを用いて食後1～2時間

尿での尿糖検査を行うことによりこれまでの試験方法で生じていた糖尿病患者及びその境界型の見逃しの問題を解消できるようになった。また、本発明はグルコース以外の体液中の成分、例えば蛋白質、潜血、ビリルビン、ウロビリノーゲン、ケトン体、亜硝酸塩などの臨床的重要な項目の分析に利用できるものであることは言うまでもない。

フロントページの続き

(72)発明者 河津 捷二
群馬県高崎市常磐町58-1 ウイング高崎
507